Gedruckt mit Unterstützung aus dem Jerome und Margaret Stonborough-Fonds

Untersuchungen über den Einfluß der Wasserstoffionen auf das Protoplasma der Wurzelhaare von *Hordeum vulgare* L. (I.)

Von

Siegfried Strugger

Aus dem pflanzenphysiologischen Institut der Universität Graz

(Mit 9 Textfiguren und 1 Tafel)

(Vorgelegt in der Sitzung am 2. Dezember 1926)

Die überaus bequeme kolorimetrische Methode zur Ermittlung der H-Ionenkonzentration hat eine ausgedehnte Literatur gezeitigt. Agrikulturchemiker studierten die Einwirkung der aktuellen und Austauschacidität auf Wachstum und Entwicklung der Kulturpflanzen, Pflanzenphysiologen untersuchten nicht allein die Wirkung wechselnder H-Konzentrationen auf die verschiedenen physiologischen Prozesse, sondern suchten auch ihre Größe innerhalb der Zellen zu ermitteln.

Auf Anregung meines hochverehrten Lehrers, Prof. Dr. Karl Linsbauer, zur Klärung einiger einschlägiger Fragen, die für Wissenschaft und Praxis von gleicher Bedeutung sind, beizutragen und insbesondere die Anpassungsfähigkeit der Pflanzen auf Schwankungen der Bodenacidität zu untersuchen, entschloß ich mich vorerst, die Kernfrage des ganzen Fragenkomplexes in Angriff zu nehmen, die bisher verhältnismäßig wenig untersucht wurde, nämlich die Frage nach der direkten Beeinflussung des lebenden Plasmas durch H-Ionen.

Die Untersuchungen der Säurewirkung auf das Plasma gehen auf Klemm (1895) zurück. Seine Versuchsobjekte waren Wurzelhaare von *Trianea bogotensis*, *Momordica-Urtica*-Haare, *Vallisneria*-Zellen und Epidermiszellen von *Tradescantia*. Er konnte die Tatsache feststellen, daß die Säuren sehr rasch in die Zellen eindringen. Schon in geringeren Konzentrationen lassen sich in den Wurzelhaaren Reaktionen des Plasmas feststellen, die er mit folgenden Worten beschreibt: »So wird zunächst die Plasmaströmung unregelmäßig, sie erleidet lokale Störungen, Stockungen einerseits, plötzliche Beschleunigung anderseits, dabei kommt es zu klumpigen Anhäufungen, es werden Protoplasmamassen zu gekröseartigen Bildungen übereinandergeschoben, so, daß der innere Umriß des wandständigen Protoplasmas die mannigfachsten Unregelmäßigkeiten zeigt.« Er stellte auch fest, daß die Strömung bald sistiert wird. Das Plasma wird trüber, was er auf »körnige Ausscheidungen« zurückführt. Bei vornehmlich zwei Verdünnungsgraden fand Klemm, daß an der Spitze

der Wurzelhaare ein typisches Platzen eintritt, wobei Protoplasma explosionsartig austritt. (Lopriore [1895] beobachtete auch das Platzen der Pollenschläuche durch CO_2-Wirkung.) In höheren Konzentrationen erstarrt das Plasma. Im Bezug auf die Grenzkonzentrationen macht er auf die Tatsache aufmerksam, »daß sie je nach wechselnden Umständen in einem weiten Spielraume verschiebbar sind.« Durch die Beobachtung dieser Erscheinung hat Klemm das Fundament für eine Theorie der Säureanpassung geschaffen. Lloyd (1917) studierte an Pollenschläuchen von *Phaseolus coccineus* das Platzen hervorgerufen durch Säuren.

Mehr als 20 Jahre später stellte Brenner (1918) Untersuchungen über die Empfindlichkeit und Permeabilität pflanzlicher Protoplasten für Säuren und Basen an. Er konnte durch Feststellung weiterer Säurewirkungen die Ergebnisse Klemms erweitern.

Úhlela und Moravek (1922) verfolgten den Vorgang des Platzens durch Säureeinwirkung an den Hyphen von *Basidiobolus ranarum* quantitativ. Eine Arbeit, welche die Frage der direkten Beeinflussung des Protoplasten durch H-Ionen schon näher berührt, stammt von der amerikanischen Forscherin Addoms (1923). Sie untersuchte die Einwirkung der Acidität des Substrates auf das Plasma der Wurzelhaare von *Triticum*. Die Objekte wurden in Nährlösungen (gepuffert) von verschiedener H-Ionenkonzentration kultiviert und im Dunkelfelde untersucht. Das Plasma der Wurzelhaare von Pflanzen, welche in p_H 3·94 gekeimt waren, erscheint normal. In p_H 3·85 bis 3·68 gekeimte Pflanzen zeigten in den Haaren zahlreiche Vakuolenbildungen. Erst in p_H 3·60 zeigten sich im Plasma Veränderungen, welche auf Koagulation desselben hindeuten. In p_H 3·47 konnte die Verfasserin im Protoplasten Ausflockungserscheinungen feststellen.

Gestützt auf diese Arbeit, behauptet Arrhenius (1926), daß die Wirkung der H-Ionen auf die verschiedenen Lebensvorgänge der Pflanzen, welche ja schon bei bedeutend geringeren Konzentrationen nachweisbar ist, nicht eine direkte, sondern eine indirekte sei. Nach Arrhenius bewirken die H-Ionen eine Veränderung der Permeabilität für andere oft giftige Ionen, welche dann für diese Wirkungen erst verantwortlich zu machen wären.

Herwerden (1925) untersuchte die reversible Gelbildung an Froschepithelzellen, insbesondere aber das Verhalten der betreffenden Zellkerne gegenüber verdünnter Essigsäure. Sie fand, daß der Zellkern, bevor noch Veränderungen im Cytoplasma zu beobachten sind, in den Gelzustand übergeht, welcher im Wasser vollständig reversibel ist.

Sakamura und Tsung-Le-Loo (1925) studierten die Viskositätsänderungen des Protoplasten von Spirogyra durch die H-Ionen in verschiedener Konzentration, wobei sie mehrere Verflüssigungs- und Verfestigungspunkte des Protoplasmas nachweisen konnten. Rumjantzew (1926) untersuchte den Einfluß der Reaktion des Mediums auf die zytoplasmatische Struktur von Leber-, Nieren- und Pankreaszellen von *Rana temporaria*.

An dieser Stelle möchte ich Herrn Prof. Dr. Friedl Weber für Hinweise auf die Literatur sowie Beschaffung derselben meinen besten Dank aussprechen.

Um die bereits oben aufgeworfene Kernfrage des Wasserstoffionenproblemes einwandfrei lösen zu können, müssen drei Forderungen methodischer Natur erfüllt werden.

1. Die Bedingungen, unter welchen das zu untersuchende Pflanzenmaterial aufwächst, müssen konstant sein.

2. Die Untersuchung muß in einem für diese Zwecke geeigneten Puffergemische erfolgen. d. h. der Faktor der Anionen muß annähernd praktisch konstant sein, wobei aber deren Konzentration so gering sein soll, daß ihre spezifische physiologische Wirkung vernachlässigt werden kann.

3. Die Untersuchung selbst muß mit einer Methode vorgenommen werden, welche es gestattet, auch Veränderungen der grob dispersen Systeme des Protoplasten nachzuweisen.

Zu Forderung 1 ist vom rein theoretischen Standpunkte aus zu bemerken, daß die Säureempfindlichkeit eines Protoplasten keinen konstanten Wert darzustellen braucht. Vielmehr muß mit der Möglichkeit gerechnet werden, daß der Grad der Säureempfindlichkeit von den äußeren physikalisch-chemischen Bedingungen abhängig ist, unter welchen das betreffende Individuum sich entwickelt hat. Daß dabei selbstverständlich der Faktor der Acidität des Substrates am meisten berücksichtigt werden muß, ist wohl naheliegend. Durch geeignete Vorrichtungen wurde es erreicht, die Samen in konstantem p_H anzuquellen. Zu diesem Behufe gelangten die Samen in ein breites Glasrohr, welches vertikal an einem Stative befestigt wurde. Von oben wurde durch eine Glasdüse tropfenweise reines Wasser aus einem höher gelegenen Reservoir permanent hineingeleitet. Dieser Zufluß ist durch einen Hahn regulierbar. Die Samen selbst ruhten geschichtet in der Glasröhre auf Filterpapier. Unterhalb wurde das wegfließende Wasser wieder gesammelt. Sowohl vom ausfließenden als auch vom zufließenden Wasser wurde kolorimetrisch von Zeit zu Zeit als Kontrolle die Acidität gemessen. Nach den Ergebnissen dieser Messungen wurde die Geschwindigkeit des zufließenden Wassers dementsprechend reguliert. Auf diese Weise gelang es, die Samen in konstantem p_H anzuquellen. Nach Anquellung wurden sie in großen Keimschalen auf feuchtem Filtrierpapier (pro analysi) sorgfältig gekeimt. Die ganze Kultur war mit einer Glasglocke, welche zum Zwecke der Durchlüftung auf kleinen Korkunterlagen ruhte, bedeckt. Die Durchlüftung hatte den Zweck, eine übermäßige Ansammlung der Atemkohlensäure zu verhindern. Für die Versuche wurde durchwegs reinrassige Gerste *(Nolc imperial)* verwendet. Auf diese Weise wurde dieser Forderung nach Tunlichkeit Genüge geleistet.

Der zweiten Forderung zu genügen, war schon schwieriger. Ich entschied mich für den Natriumacetatessigsäurepuffer nach Michaelis. Dieser Puffer hat die Eigenschaft der praktischen Konstanz der Anionen und infolgedessen kann auch mit seiner

physiologischen Konstanz gerechnet werden. Die Konzentration des Na-Acetats war in allen Puffern die gleiche. Variabl war nur die Menge der Essigsäure. Durch dieses Vorgehen wurde es erreicht, daß praktisch in den Lösungen nur die [H˙] sonst keine andern Ionen in meßbarer Menge variiert wurden. Durch folgende Tabellen, die ich nach Michaelis bringe, bestätigt sich diese Überlegung zahlenmäßig.

Tabelle 1 (nach Michaelis).

Lösung Nr.	1	2	3	4		6
Na-Acetat in cm^3	1	1	1	1	1	1
CH_3COOH	0·1	0·2	0·4	0·8	1·6	3·2
H_2O i cm^3	8·9	8·8	8·6	8·2	7·4	5·8

Das Volumen ist überall 10 cm^3. Das Na-Acetat ist überall in 0·01 norm. Lösung. Der Gehalt an Essigsäure variiert zwischen 0·001 bis 0·32 Normalität. Die Wasserstoffionenkonzentrationen dieser Lösungen sind folgende:

Lösung Nr.	1	2	3	4	5	6
	$2·1.10^{-6}$	$4·3.10^{-6}$	$8·6.10^{-6}$	$1·7.10^{-5}$	$3·5.10^{-5}$	$6·9.10^{-5}$

Folgende Tabelle gibt Aufschluß über die Zunahme der Konzentration der Anionen, welche durch den Säurezusatz bedingt ist.

Tabelle 2 (nach Michaelis).

Lösung Nr.	1		3	4		6
Acetat-Ionen aus dem Salze	0·0087	0·0087	0·0087	0·0087	0·0087	0·0087
Acetat-Ionen aus der Säure	0·0000021	0·0000043	0·0000086	0·000017	0·000035	0·000069
Summe...	**0·0087021**	0·0087043	0·0087086	0·008717	0·008735	**0·008769**

Dies sind die Zahlen für den Puffer, der mit variierender 0·1 norm. Essigsäure hergestellt ist. Ich verwendete für meine Versuche den Puffer der mit 0·01 norm. Essigsäure hergestellt wurde. Die Änderung der Acetat-Ionenkonzentration ist in dem von mir verwendeten Puffer noch eine minimalere.

Es ist also die Gewähr vorhanden, daß diese minimalen Anionenkonzentrationen nicht hinreichen, tiefgreifende Veränderungen im Protoplasten hervorzurufen. Dieser Puffer entspricht demnach den geforderten Bedingungen. Der Nachteil ist aber dieser, daß er nur

einen Tag verwendbar ist und demnach für jede Untersuchung neu hergestellt werden mußte. Die Messung der Wasserstoffionenkonzentration erfolgte sehr befriedigend mit einem Hiltner'schen Doppelkeilkolorimeter geliefert durch die Firma Altmann, Berlin.

Forderung 3 löste ich, angeregt durch die Untersuchungen von Addoms, durch die Beobachtung im Dunkelfelde. Diese Beobachtungsmethode hat den Vorteil, daß sich Veränderungen der grob dispersen kolloidalen Phasen des Plasmas einwandfrei beobachten lassen und daß es zugleich auch möglich ist, Veränderungen der morphologischen Struktur des Plasmas deutlich zu verfolgen. Zur Untersuchung wurde der Paraboloidkondensor von Zeiß benützt. Die Methodik der einzelnen Spezialuntersuchungen wird erst in den betreffenden Kapiteln erörtert werden.

Die Fragen, mit welchen sich diese vorliegende Schrift auseinandersetzt sind folgende:

I. Wie beeinflussen die H-Ionen die morphologische Struktur des Protoplasten der Wurzelhaare, welche Veränderungen der grob dispersen Phasen des Plasmas gehen durch diese Einwirkung vor sich und inwiefern sind diese Veränderungen wieder reversibel?

II. Wie beeinflussen die H-Ionen die Geschwindigkeit der Plasmaströmung?

I. Strukturelle Veränderungen.

Um die Einwirkung der H-Ionen auf das Plasma zu studieren, verwendete ich folgende Versuchsmethodik. Aus der Kultur wurde eine ganze Wurzel mit der Schere abgeschnitten und sorgfältig auf den Objektträger in einen Tropfen des betreffenden Puffers übertragen. Nach vorsichtiger Auflegung des Deckglases erfolgte sofort die Beobachtung im Dunkelfelde, welche sich 6 bis 10 Minuten ausdehnte. Es sind also in vorliegenden Untersuchungen nur Veränderungen studiert, welche in diesem Zeitraum vor sich gehen. Doch haben Untersuchungen gezeigt, daß auch im Verlaufe von 10 bis 20 Minuten sich das morphologische Bild im großen und ganzen nicht mehr wesentlich ändert.

Um zunächst ein Bild von der Struktur des Plasmas der Wurzelhaare unter normalen Verhältnissen zu erlangen, studierte ich die Haare in reinem Leitungswasser durch Beobachtung im Dunkelfelde. Es zeigen sich zwei typische Vakuolenbildungen. Die »apikale Vakuole« ist zwischen der Ansammlung des Plasmas um den Kern und der Plasmaansammlung an der Spitze des Haares gelegen. Die »große Zentralvakuole« erstreckt sich durch die ganze übrige Haarpartie. Man beachte die schematische Figur 1. Das Plasma ist mikronenarm und in lebhafter Strömung begriffen.

Dieses Stadium möchte ich in Hinkunft als »primäres Vakuolenstadium« definieren.

Um die Darstellung der Vorgänge übersichtlicher zu gestalten, bringe ich zunächst gleichsam einen Plan der ganzen strukturellen Veränderungen des Protoplasten. Als Richtlinien für diese Übersicht

nehme ich die groben morphologischen Veränderungen. Auf die Detailbeschreibungen wird erst in den betreffenden Abschnitten eingegangen werden.

1. Von p_H 6·80 bis 6·40 erstreckt sich das oben definierte »primäre Vakuolenstadium«, d. h. die Mehrzahl der Haare weisen trotz anderer Veränderungen deutlich die »apikale Vakuole« auf (vgl. Fig. 1).

2. Von p_H 6·40 bis 6·25 verschwindet die apikale Vakuole vollständig, so daß die ganze Spitzenpartie des Haares mit Plasma erfüllt ist. Dieses Stadium ist das Übergangsstadium vom primären zum sekundären Vakuolenstadium (vgl. Fig. 2).

3. Von p_H 6·25 bis 6·15 bilden sich in der Zentralvakuole, die sich auch beträchtlich verkleinert, Plasma-Queranastomosen gleich hinter der oft umfangreichen Plasma-Spitzenpartie aus, so daß eine ganze Kette von kleinen oder größeren Vakuolen gebildet wird.

Dieses Stadium definiere ich als »sekundäres Vakuolenstadium« (vgl. Fig. 3).

4. Von p_H 6·15 bis 6·10 ist das sekundäre Vakuolenstadium wieder im Rückgang begriffen. Es zeigen sich Bilder wie in p_H 6·70. Dieses Stadium ist ein Übergangsstadium zum primären Vakuolenstadium.

5. Im p_H-Bereich 6·10 bis 5·90 tritt wieder das ganz normale primäre Vakuolenstadium zutage.

6. Von p_H 5·90 bis 5·80 tritt analog dem p_H-Bereich 6·40 bis 6·25 der Übergang vom primären zum sekundären Vakuolenstadium auf.

7. Von p_H 5·80 bis 5·60 zeigt sich wieder das typische sekundäre Vakuolenstadium als prämortale Erscheinung.

In p_H 5·60 ist die letale Grenze erreicht.

ad 1. Steigert man die $H^{\bullet}$-Konzentration von p_H 6·80 auf p_H 6·70, so gelingt es bereits geringe Veränderungen der Plasmastruktur festzustellen. Man kann deutlich eine Vermehrung der Mikronenanzahl beobachten. Dies kommt im Dunkelfelde sowohl durch ein Lichtstärkerwerden des Protoplasten, als auch durch eine sichtbare Vermehrung derselben zum Ausdrucke. Seltener nimmt das Plasma auf Kosten der Vakuolen an Volumen zu (vgl. Tafel, Fig. 1).

Es ist also evident, daß die H-Ionen bereits in so geringen Konzentrationen eine sichtbare Veränderung im Plasma hervorrufen. Untersucht man diese Vorgänge im p_H-Bereich 6·70 bis 6·60, so zeigen sich schon stärkere strukturelle Veränderungen. Die Mikronenvermehrung tritt bedeutend intensiver ein. Die apikale Vakuole verkleinert sich oft um ein Bedeutendes, was mit einer Volumszunahme des Protoplasten verbunden ist. Die Mikronen selbst zeigen häufig eine merkwürdige Veränderung. Sie werden bedeutend lichtstärker. Dieser Umstand spricht für eine Vergrößerung derselben. In sehr seltenen Fällen konnte ich auch eine Ausflockung des Kernes feststellen (vgl. Tafel, Fig. 2, 3).

Beobachtet man die Haare im p_H-Bereich 6·60 bis 6·50, so kann man wenig auffällige Veränderungen des morphologischen Bildes gegenüber den vorhin beschriebenen Veränderungen feststellen.

Die Mikronenanzahl ist im Steigen begriffen. Desgleichen nimmt das Plasmavolumen zu. Die Vergrößerung der Mikronen tritt deutlicher und schneller ein als in den vorerwähnten Konzentrationen. Da jedoch, wie im nächsten Kapitel beschrieben wird, bei dieser Wasserstoffionenkonzentration ein Minimum der Plasmaviskosität erreicht wird, so kommt es infolge der heftigen Strömung zu einer gleichmäßigeren Verteilung der Plasmamassen. Das primäre Vakuolenstadium tritt dadurch deutlicher zutage. Der Kern flockt mitunter in einigen Haaren aus oder er wird schwach sichtbar.

In dem p_H-Bereich 6·50 bis 6·40 beginnt das primäre Vakuolenstadium bereits weniger ausgeprägt zu werden. Die Verkleinerung der apikalen Vakuole ist in vielen Haaren schon so weit vorgeschritten, daß dieselbe fast verschwunden ist. In diesem Falle ist die Spitzen-

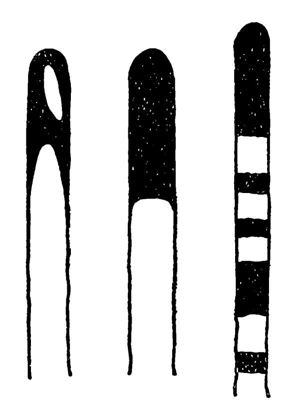


Fig. 1, 2, 3.
Schematische Wiedergabe der groben morphologischen Veränderungen, hervorgerufen durch die H-Ionen.

partie des Haares vollkommen mit Plasma erfüllt. In den meisten Haaren ist die apikale Vakuole noch vorhanden. Ihre Größe ist jedoch sehr gering. Diese Vergrößerung des Plasmavolumens entspricht auch einer starken Vermehrung der Plasmamikronen. Eine Vergrößerung derselben konnte beobachtet werden. Die Kernausflockung ist noch nicht typisch, das heißt, sie tritt noch in der Minderzahl der Haare auf (vgl. Tafel, Fig. 4, 5).

ad 2. Steigert man nun allmählich die H-Ionenkonzentration weiter, also von p_H 6·40 auf p_H 6·30, so kann man von einem primären Vakuolenstadium wohl nicht mehr sprechen. Bei der Mehrzahl der Haare ist die Verkleinerung der apikalen Vakuole zugunsten des Plasmavolumens bis zum vollständigen Verschwinden derselben vorgeschritten. Die ganze Spitzenpartie der Haare ist mit Plasma erfüllt. In der Konzentration p_H 6·35 flockt der Kern in der Mehrzahl der Haare aus. Grell leuchtend und scharf konturiert tritt er in einiger Entfernung von der Spitze auf. Ich habe ihn durch Färbeversuche auch an derselben Stelle identifizieren können. Bemerkenswert ist die

Tatsache, daß der Kern kreisrund erscheint, während er sonst durch Färbungen spindelförmig zutage tritt. Dieser Umstand scheint für eine Viskositäts- oder Oberflächenspannungsänderung des Karyoplasmas zu sprechen. Sehr wenige Haare zeigen die Erscheinung des Platzens (Tafel, Fig. 6, 7).

Im p_H-Bereich 6·30 bis 6·20 kann man folgende weitere Veränderungen feststellen: Das Plasma nimmt an Volumen beträchtlich zu, wodurch die große Zentralvakuole verkleinert wird. Somit erscheint das Haar von der Spitze an mit Plasma erfüllt und dieses erstreckt sich mehr oder weniger weit nach hinten. In 5 bis 6 Minuten läßt sich auch eine Vergrößerung der Mikronen deutlich feststellen. Der Kern flockt aus. Einzelne Haare zeigen die Erscheinung der Plasmoptyse. Bei weiterer Konzentrationssteigerung von p_H 6·20 bis 6·18 treten diese Erscheinungen noch deutlicher zutage. In einzelnen Haaren kommt es bereits zu einer typischen sekundären Vakuolenbildung. Das Plasma leuchtet stark auf. Die Mikronenanzahl ist im Steigen begriffen. Durch dieses Aufleuchten des Plasmas ist es oft schwer, den Zellkern zu beobachten. Es liegt hier ein Übergang zum sekundären Vakuolenstadium vor.

ad 3. In p_H 6·15 ist das typische sekundäre Vakuolenstadium erreicht. Die große Zentralvakuole ist durch ganze Reihen von kleineren Plasmabrücken in eine Anzahl kleinerer oder größerer Vakuolen geteilt. In diesem Punkte ist auch das Maximum der Mikronenanzahl und des Plasmavolumens gelegen. Die Ausflockung des Kernes ist leider infolge des starken Aufleuchtens des Protoplasten nicht sicher zu beobachten. Einzelne Haare sterben ab. Das Plasma zeigt bei diesen gerinselförmige Strukturen. Ein geringer, doch gegenüber früheren Konzentrationen größerer Prozentsatz der Haare platzt. In diesem Punkt tritt also die Plasmoptyse das erstemal schärfer hervor (Tafel, Fig. 8, 9).

ad 4. Steigert man die H-Ionenkonzentration über p_H 6·15, so tritt etwas Überraschendes zutage. Es zeigt sich nämlich, daß die beschriebene Reihenfolge der Veränderungen, welche in p_H 6·15 ihren Höhepunkt erreicht, wieder rückgängig wird. In p_H 6·13 bis 6·10 kann man wohl sehr selten sekundäre Vakuolen beobachten. In den meisten Fällen ist die apikale Vakuole wieder sichtbar oder sie ist noch vollständig mit Plasma erfüllt, so, daß das für p_H 6·40 beschriebene Bild zustande kommt. Ebenso ist die Zahl der Mikronen im rapiden Rückgang begriffen. Der Kern ist deutlich sichtbar. Kurz, man kann dieses Stadium als Übergang vom sekundären zum primären Vakuolenstadium bezeichnen. An der Spitze zeigen die Haare häufig Anschwellungen. Ob dies eine Folge einer Steigerung des Turgors ist oder aber durch Plasmaquellung bedingt ist (vgl. Lloyd und Uhlela, 1926) soll hier nicht erörtert werden. Platzen tritt seltener ein (Tafel, Fig. 10).

ad 5. Von p_H 6·10 bis 5·90 sind diese Veränderungen wieder im Rückgang begriffen. Das primäre Vakuolenstadium tritt immer deutlicher zutage.

In p_H 5·90 ist die morphologische Struktur des Plasmas der Wurzelhaare wieder eine ganz normale. (Man vergleiche die beiden Mikrophotogramme, Tafel, Fig. 2, aufgenommen in p_H 6·70 und Tafel, Fig. 11, aufgenommen in p_H 5·90.) In diesem Punkte ist auch das Minimum der Mikronenzahl gelegen. Ausflocken des Kernes konnte ich nicht beobachten.

ad 6. Steigert man nun wieder die Konzentration um fünf Hundertstel, also auf p_H 5·85, so wiederholt sich nun wieder die unter 1 besprochene Reaktionsreihe des Plasmas von p_H 6·60 bis 6·15. Es tritt auffallende Vermehrung der Mikronen ein. Die apikale Vakuole verkleinert sich zugunsten des Plasmavolumens. Oft ist dieselbe bereits wieder verschwunden. Die Kernausflockung konnte nicht exakt festgestellt werden (vgl. Tafel, Fig. 12).

ad 7. Von p_H 5·80 bis 5·70 ist in vielen Fällen das sekundäre Vakuolenstadium wieder erreicht. Bei weiterer Konzentrationssteigerung p_H 6·65 stirbt der größte Teil der Haare ab. 70$^0/_0$ der Haare platzen in dieser Konzentration, das Plasma der übrigen erstarrt, wobei es bald abstirbt. Derartige Haare sind fast ganz mit den körnigen, flockigen Ausscheidungen erfüllt. Oft kann man noch beobachten, daß Teile des Plasmas noch am Leben sind, während der Großteil bereits abgestorben ist. (Vgl. Tafel, Fig. 13, 14, 15, 16.) Es ist somit diese H-Ionenkonzentration für das unter den gegebenen Bedingungen sich entwickelnde Protoplasma der Wurzelhaare von *Hordeum* die letale Grenzkonzentration.

Klemm konnte beobachten, daß das Platzen der Wurzelhaare in zwei verschiedenen Säurekonzentrationen besonders deutlich hervortritt. Diese Beobachtung Klemm's kann ich vollkommen bestätigen. Desgleichen stimmen die Befunde Klemm's mit meinen in Bezug auf die Art und Weise des Platzens überein. Das Plasma stirbt nämlich noch nicht nach der ersten Plasmaentleerung ab, sondern es scheint sich wieder eine neue semipermeable Schicht zu bilden. Der Innendruck steigt nun abermals infolge der H-Ionenwirkung und es kommt infolgedessen zu einer zweiten explosionsartigen Plasmaentleerung. Dieser Vorgang kann sich wiederholen, bis das Haar fast ganz entleert ist. Dann tritt der Tod ein. Im übrigen verweise ich auf die Photogramme. Eine eingehende Diskussion über die Ergebnisse und Ansichten, die Lloyd und Ùhlela (1926) und Ùhlela (1923), Pantanelli 1905 und Demeter (1923) in Bezug auf die Plasmoptyse vertreten, wird in einem besonderen der Plasmoptyse gewidmeten Kapitel des zweiten Teiles meiner Untersuchungen gebracht werden.

Stellt man nun diese Reaktionsreihen des Plasmas in ihrer Gesamtheit graphisch dar, so ergibt sich das Bild einer zweigipfligen Kurve. Sämtliche strukturellen Veränderungen, die Zu- und Abnahme der Mikronenanzahl, die Veränderungen des Plasmavolumens, die Reihe der Änderungen der Vakuolenstruktur, entsprechen dieser Kurvenform. Wir finden zwei Maxima; das erste bei p_H 6·15, das zweite

bei p_H 5·65. Dazwischen sind die Minima gelegen, welche das primäre Vakuolenstadium vorstellen. Alle Stadien des Kernes konnte ich leider nicht genau feststellen, da es nicht möglich war, in Fällen, wo das Plasma sehr stark aufleuchtete, den Zustand des Kernes exakt zu beobachten. Immerhin wäre es wohl interessant, ein Bild von der physiologischen Reaktion des Kernes gegenüber den H-Ionen zu erlangen.

Eine Frage, die sich bei diesen Untersuchungen immer mehr aufdrängte, war die, inwiefern diese Veränderungen im Plasma unter normalen Bedingungen wieder reversibel sind. Ich bin dieser Frage nur in einer Versuchsreihe nachgegangen, welche jedoch interessante Ergebnisse zeitigte, so daß ich die Tatsachen, welche sich aus diesen nur orientierenden Versuchen ergeben haben, an dieser Stelle kurz anführen möchte. Methodisch wurde folgendermaßen vorgegangen. Die zu untersuchende Wurzel wurde 10 Minuten in ein bedecktes Schälchen in den betreffenden Puffer gegeben. Aus diesem kam

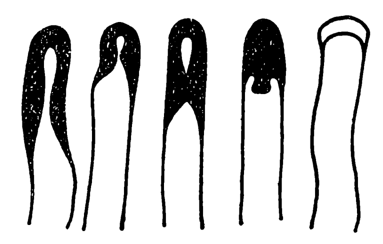


Fig. 4, 5, 6, zeigen deutlich die Art und Weise wie sich die Wandverdickungen bilden. Fig. 8 zeigt, daß auch der Fall eintreten kann, daß das Plasma einfach eine neue Membran bildet.

dieselbe dann in eine große Schale in reines Wasser. Die Schale wurde bedeckt und über Nacht stehen gelassen. Morgens oder im Laufe des Vormittags wurde die eingehende Untersuchung im Hell- und Dunkelfelde vorgenommen. Von den Stadien p_H 6·80 bis 6·35 sind alle Veränderungen des Plasmas reversibel. Von p_H 6·35 an, also von der Grenzkonzentration der Ausflockung des Kernes an, zeigen sich eigenartige Regenerationserscheinungen. Es bilden sich an der Spitzenpartie der Haare eigenartige Wandverdickungen aus, welche im Laufe ihrer Entwicklung die Spitzenpartie des Protoplasten, die mittlerweile abstirbt, vom übrigen Plasma abschnürt. In vorliegenden Figuren (4, 5, 6, 7) ist die Entwicklung dieser Regenerate deutlich zu erkennen. In seltenen Fällen konnte ich die in Fig. 8 wiedergegebene Bildung beobachten. Pantanelli (1904) stellte fest, daß wachstumshemmende Reagentien eine aus Zellulose bestehende Wandverdickung an der Spitze von Pollenschläuchen hervorrufen. Inwiefern diese Bildungen mit den von mir beobachteten Regenerationsbildungen im Zusammenhang stehen, soll hier nicht diskutiert werden. Die Verdickungen bestehen, wie es der mikrochemische Nachweis ergeben hat (Jodjodkali und Schwefelsäure) aus Zellulose. Diese Bilder kann man in mehr oder weniger guter

Ausbildung in allen folgenden Konzentrationen beobachten. Die Ausflockung des Zellkernes ist bis p_H 5·85 reversibel. Sie ist also eine reversible Gelbildung im Sinne Herwerdens. Das Plasma ist erst bei der letalen Konzentration irreversibel. Bemerkenswert ist auch die Tatsache, daß das Plasma bei diesen Versuchen in niederer H-Ionenkonzentration fast mikronenfrei erscheint. Ja, ich konnte Fälle beobachten, bei denen ich im Dunkelfelde vom Plasma nur mit vieler Mühe einzelne in Brown'scher Molekularbewegung befindliche Mikronen erkennen konnte. Mit steigender Konzentration nimmt auch bei diesen Versuchen die Mikronenanzahl zu.

Als kurze Zusammenfassung der Ergebnisse dieser Untersuchungen ist folgendes zu erwähnen:

1. Das Plasma reagiert sichtbar bereits auf eine Änderung der H-Ionenkonzentration von p_H 6·80 bis **6·70**.

2. Die Art und Weise der physiologischen Reaktion des Protoplasten gegenüber den H-Ionen zeigt sich *a)* in einer Volumsvergrößerung des Plasmas auf Kosten der Vakuolen, *b)* in einer Vermehrung der Mikronenanzahl, *c)* in einer Vergrößerung der Mikronen selbst, *d)* in einer Zustandsänderung des Kernes, *e)* in einer Änderung des Innendruckes, welche an den Anschwellungen und dem Platzen zu erkennen ist.

3. Diese physiologischen Reaktionen des Plasmas gehen in Form einer zweigipfligen Kurve vor sich, wobei das zweite Maximum der letalen Dosis entspricht.

4. Die Ausflockung des Kernes tritt in Konzentrationen auf, in denen das Plasma auf die H-Ionen noch verhältnismäßig schwach reagiert.

5. Die Ausflockung des Kernes und die Veränderung der Plasmastruktur ist in Wasser mit normalem p_H wieder reversibel, wobei sich jedoch eigenartige Regenerationserscheinungen zeigen. Irreversibel wird der Gelzustand des Kernes in Konzentrationen, in denen die Veränderungen des Plasmas noch reversibel sind.

II. Abhängigkeit der Plasmaströmung von der Wasserstoffionenkonzentration.

Zunächst ist es wohl notwendig, eine methodische Erörterung einzuschalten. Die Messungsmethoden der Plasmaströmung kann man, je nach dem Inhaltsstoff der Zelle, mit dessen Hilfe die Messung vorgenommen wird, in zwei Gruppen teilen.

1. Die Messung an größeren Plastiden.

2. Die Messung an Mikrosomen.

ad 1. Je größer der Körper ist, an welchem man die Messung vornimmt, desto größer ist die Möglichkeit einer Hemmung. Unregelmäßigkeiten der Wanderungsgeschwindigkeit von Chloroplasten können durch zwei Faktoren bedingt sein. 1. Es muß mit der Möglichkeit

gerechnet werden, daß es im Plasma Zonen verschiedener Viskosität geben kann. Dadurch ist es im Extremfalle möglich, daß der Chloroplast keine Strömung indiziert, während in Wirklichkeit eine solche vorhanden ist. 2. Die Plastiden sind sehr ungleichmäßig vom Plasma umgeben und sie bewegen sich an der Oberfläche des Plasmastromes. Durch diesen Umstand können Unregelmäßigkeiten bedingt sein. Man stelle sich nur den Fall vor, daß ein dünner Plasmastrang einen Chloroplasten weiterbewegt. Im Dunkelfelde kann man sich von der Differenz der Strömungsgeschwindigkeit der Mikrosomen gegenüber der des Chloroplasten überzeugen. Als hemmende Faktoren kommen bei größeren Beobachtungsobjekten (Plastiden) durchwegs inkonstante und unberechenbare Einflüsse in Betracht.

ad 2. Mißt man die Strömung an größeren Mikrosomen, so kann mit verläßlicheren Resultaten gerechnet werden. Plasmazonen verschiedener Viskosität lassen sich mit Hilfe der Mikrosomen leichter beobachten. Außerdem liegen die Mikrosomen eingebettet im Protoplasten, sie bewegen sich also im Plasmastrome, so daß sie auch infolge ihrer Kleinheit dessen Bewegungen getreuer mitmachen können. Für Messungen an kleinen Teilchen kommen inkonstante Hemmungsfaktoren kaum in Betracht. Dafür scheint ein anderer Hemmungsfaktor vorhanden zu sein. Je kleiner das Teilchen ist, desto mehr werden die allseitig gerichteten molekularen Kräfte das Teilchen beeinflussen. Infolge ihrer Allseitigkeit heben sich jedoch diese Kräfte auf. Aus diesem Grunde ist dieser Faktor nicht in Betracht zu ziehen. Belehrádek (1924/25) weist klar auf die Tatsache hin, daß zwischen der Strömungsgeschwindigkeit der Chloroplasten und der der Mikrosomen ein großer Unterschied besteht. Die Strömung des Zytoplasmas, welche er an der Wanderungsgeschwindigkeit der Mikrosomen gemessen hatte, ist gegenüber der der Chloroplasten konstant. Die Strömungsbewegung der Chloroplasten erfolgt nach diesem Autor nur nach traumatischer und Lichtreizung, während die Strömung der Mikrosomen von Anfang an in gleicher Intensität vorhanden ist.

Vorliegende Überlegungen führen zum Schluß, daß die genauesten Resultate zu erreichen wären, wenn es gelänge, die Geschwindigkeit der Strömung an den Teilchen der grobdispersen Phasen des Plasmas selbst zu messen. Diese Suspensoidteilchen sind so klein, daß sie unverfälscht die Eigenbewegung der hydrophilkolloidalen Phasen des Plasmas mitmachen müssen. Zu diesem Behufe führte ich die Messungen mit Hilfe des Paraboloidkondensors aus. Zur Beobachtung verwendete ich das Objektiv *E* von Zeiß ohne Trichterblende. Dadurch ist die Apertur des Objektives für den Kondensor eine zu große. Als Folge davon ergibt sich im Gesichtsfelde ein Mittelding zwischen Hell- und Dunkelfeld. Man sieht die kleinen Mikronen der grobdispersen Phasen des Plasmas und zugleich ist es möglich, die Teilstriche des Okularmikrometers deutlich zu verfolgen. Die Messungen wurden derart vorgenommen, daß die

Zeit in Sekunden gemessen wurde, die notwendig ist, damit ein Mikron zehn Teilstriche des Okularmikrometers zurücklegt. Es wurde auch darauf geachtet, daß zur Messung Mikronen von derselben Lichtstärke, d. h. von derselben Größe, verwendet wurden. Von je zehn Messungen wurde der Mittelwert bestimmt und von allen Mittelwerten eines p_H-Bereiches wurde der allgemeine Mittelwert desselben errechnet Die Wurzelhaare wurden ganz gleich wie bei den morphologischen Untersuchungen behandelt. Die Messungen erstreckten sich über einen Zeitraum von 3 bis 15 Minuten.

Auf eine Wiedergabe der umfangreichen Protokolle in extenso wird verzichtet. Dieselben liegen im Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Graz zur Einsicht auf. An dieser Stelle bringe ich einen Auszug aus den Protokollen, damit daraus die Art und Weise der Messungen ersichtlich wird.

pH	6·75—6·80	6·50—6·40	6·30—6·20	5·90	5·90—5·85
Beginn der H-Ionenwirkung	5h 20'	7h 15'	11h 6'	11h 20'	4h 47 1/2'
Beginn der Messung	5h 25'	7h 16'	11h 9'	11h 22'	4h 55'
Messungsresultate (Zeit in Sekunden)	2 1/4	1 3/4	3 3/4	2 3/4	2 1/2
	2 1/4	2	2 3/4	2	2
	2		3 1/2	2 1/4	2
	2 1/4	2	5 3/4	2 1/4	2
	2 1/4	1 3/4	3 1/2	2 1/2	2
	2	2	4 1/2	2	2
	2 1/4	1 3/4	4 1/2	2 3/4	2
	2 1/4	1 3/4	3 1/4	2 1/4	2
	2 1/4	1 3/4	3 3/4	2	2
	2 1/4	1 3/4	4 1/2	2 1/2	2
Ende der Messung	5h 34'	7h 20'	11h 20'	11h 35'	4h 58'
Mittelwerte	2·2 (2)	1·85 (2)	3·975 (4)	2·325 (2)	2·05 (2)

Um ein Bild der Differenzen der Ergebnisse und der Mittelwerte in verschiedenen H-Ionenkonzentrationen zu geben, bringe ich noch vergleichsweise ohne besondere Auswahl folgenden Protokollauszug:

pH	6·75—6·80		6·60—6·50		6·30—6·20		6·20—6·18		5·90—5·95	
Beginn der H-Ionen-wirkung	$3^{h}\,54'$	9^{h}	$10^{h}\,33'$	11^{h}	$2^{h}\,46'$	$3^{h}\,16'$	$11^{h}\,35'$	$11^{h}\,35'$	$5^{h}\,2'$	$5^{h}\,15'$
Beginn der Messungen	$3^{h}\,59'$	$9^{h}\,10'$	$10^{h}\,36'$	$11^{h}\,11'$	$2^{h}\,52'$	$3^{h}\,18'$	$11^{h}\,38'$	$11^{h}\,35'$	$5^{h}\,4'$	$5^{h}\,22'$
Messungs-resultate (Zeit in Sekunden)	3	2 1/4	1 1/2	2	7	3	5 1/2	6 1/4	2 1/2	2 1/4
	3	2	1 3/4	1 1/2	5 1/2	3 1/2	5 3/4	7 1/2	2 3/4	2 1/2
	3	1 3/4	2	1 3/4	6 1/2	2 3/4	4	6	2 1/4	2 1/2
	2 3/4	2 1/2	1 1/	1 3/4	5 1/2	3	6 1/4		2 1/4	2 1/4
	2 3/4	1 3/4	1 1/2	1 3/4	6 1/2	2 1/2	5 3/4	6	2 3/4	2 3/4
	2 1/4	2 1/4	1 1/2	2	7 1/2	3 3/4	4	6 1/2	2 1/4	2 1/4
	3	2 1/4	1 1/2	1 3/4	6	2	6	4 1/4	2 1/	2 1/2
	2 1/2	2 1/4	1 3/4	2	6	2 1	6	7 3/4	2 1/4	2
	2 1/4	2	2	2	5 1/4	2 3/4	5 3/4	6 1/	2	2 1/4
	2 3/4	2 1/4	1 3/4	2 1/4	9 1/2	3	4 1/2	5 1/	1 3/4	
Ende der Messung	$4^{h}\,6'$	$9^{h}\,15'$	$10^{h}\,50'$	$11^{h}\,15'$	$2^{h}\,56'$	$3^{h}\,26'$	$11^{h}\,43'$	12^{h}	$5^{h}\,9'$	$5^{h}\,26'$
Mittelwerte	2·75	2·05	1·675	1·825	6·325	2·825	5·35	6·125	2·325	2·125
abgerundet	3	2	2	2	6	3		6	2	2

Nach Untersuchungen von Fitting (1925) und Beikirch (1925) wirken viele äußere physikalische als auch chemische Einflüsse auf die Plasmaströmung stimulierend ein. Insbesondere nach Fitting das Licht. Da ich aber die Messungen an Mikrosomen anstellte, so kommt nach Belehrádek der Lichtreiz für Mikrosomen nicht in Betracht, da ja nur die Chloroplasten durch den Lichtreiz zur Strömung angeregt werden. Um für den Fall einer Lichtreizwirkung diesen Faktor auszuschalten, gebrauchte ich immer die gleiche Bogenlampe als Lichtquelle. Außerdem wurden so viele Messungen vorgenommen, daß etwaige Fehler, die durch längere Beobachtungszeit und somit auch durch länger oder kürzer andauernden Lichtreiz zustande kommen könnten, ausgeglichen wurden. Der Temperaturfaktor kommt infolge seiner Konstanz (19 bis 22° C.) nicht in Frage. Jurišić (1925) gibt an, daß das Alter der Zellen für vergleichende Untersuchungen in Betracht gezogen werden müsse, da die Strömungsintensität mit zunehmendem Alter eine variable ist. Er bringt diese Tatsache sehr schön in einer Tabelle für die Wurzelhaare von *Trianea bogotensis.* Bei meinen Versuchen konnte ich nur Haare einer bestimmten mittleren Region untersuchen, da der hell aufleuchtende

Wurzelkörper es nicht gestattete, im Dunkelfelde jüngere Haare zu untersuchen. Um diesen Faktor ganz auszuschalten, verwendete ich auch immer gleichalte Haare. Aus diesem Grund ist die Annahme berechtigt, daß die von mir gefundenen Veränderungen der Strömungsintensität einzig und allein von der Veränderung der H-Ionenkonzentration abhängig sind. Es ließe auch die Konstanz der Ergebnisse nicht zu, hier unberechenbare Faktoren als Ursache einer solch empfindlichen Reaktion anzunehmen.

Über die Wirkung der Säuren auf die Plasmaströmung findet sich in der Literatur eine für vorliegende Untersuchungen bemerkens-

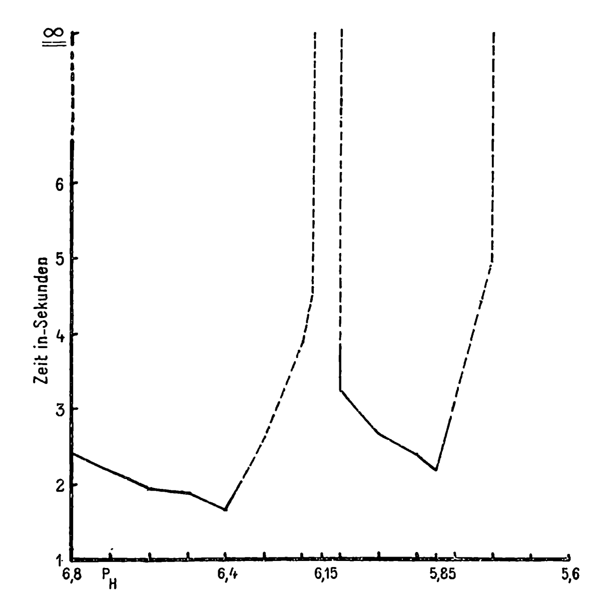


Fig. 9. Die Abhängigkeit der Plasmaströmung von der [H˙]-Konzentration in graphischer Darstellung.

werte Angabe. Lakon (1914) konstatierte eine überaus heftige Beschleunigung der Plasmaströmung in *Elodea*-Zellen durch eine 0·005 prozentige Schwefelsäure. Er bemerkt auch ausdrücklich, daß der Erfolg eines Zusatzes einer derart verdünnten Säure sich in kürzester Zeit einstellt (1 bis 2 Minuten). Meine Versuche können tatsächlich in gewissen Konzentrationen diese Feststellung bestätigen.

In beigegebener Kurve ist das Gesamtergebnis der umfangreichen Untersuchungen graphisch dargestellt. Auf der X-Achse ist die H-Ionenkonzentration, auf der Y-Achse die Zeit in Sekunden, welche notwendig ist, damit ein Suspensoidteilchen des Plasmas zehn Teilstriche des Mikrometers zurücklegt, aufgetragen.

Im Bereich p_H 6·80 bis 6·70 ist der allgemeine Mittelwert 2·4. Durch die Einwirkung einer etwas stärkeren Konzentration

wird die Strömung um ein Bedeutendes stimuliert. Es tritt Dinese[1] ein. Im Bereich p_H 6·70 bis 6·60 ist der Mittelwert schon auf 2 gesunken. Es zeigt sich also auch in diesen rein quantitativen Untersuchungen, daß schon so geringe Konzentrationen der H-Ionen eine wahrnehmbare physiologische Reaktion hervorzurufen imstande sind. Durch dieses Resultat wird auch das analoge Ergebnis der morphologischen Untersuchungen bestätigt.

Diese Beschleunigung der Strömung geht noch immer weiter. Von p_H 6·60 bis 6·50 erniedrigt sich der Wert bis 1·9. Von p_H 6·50 bis 6·40 sinkt er auf 1·7. In diesem Punkte ist auch das erste Minimum der Kurve erreicht. Dieser Teil der Kurve, welcher voll ausgezogen ist, zeichnet sich durch die Konstanz der Strömungsgeschwindigkeiten aus. In den folgenden p_H-Bereichen bis p_H 6·13 tritt die bereits von Klemm (1895) festgestellte Unregelmäßigkeit der Strömung ein, welche in der Kurve durch Strichlierung zum Ausdrucke gebracht wird. Die allgemeinen Mittelwerte dieses p_H-Bereiches sind natürlich nur ideelle Werte, die für die Definition der Strömungsintensität vollkommen genügen.

Von diesem Minimum, also von p_H 6·40 bis 6·30, steigt dieser Mittelwert rapid auf 2·6. Von p_H 6·30 bis 6·20 steigt er weiter auf 3·8. In diesen Konzentrationen werden die Differenzen zwischen den einzelnen Werten immer größer. Bei p_H 6·20 bis 6·18 steigt er auf 4·5. In p_H 6·15 ist schließlich der Wert Unendlich erreicht, d. h. die Geschwindigkeit ist gleich 0. Das erste Maximum der Kurve ist erreicht.

Gleich darauf beginnt die Kurve sehr steil, ja fast senkrecht zu fallen. Sie erreicht bei p_H 6·13 bis 6·10 wieder Werte, die um 3 liegen, welche aber infolge der beträchtlichen Aberrationen sehr schwer zu bestimmen sind. Von p_H 6·10 an zeichnet sich die Strömung wieder durch ihre Konstanz aus. Dieser bereits wieder reelle Wert fällt nun bei p_H 6·10 bis 6·00 auf 2·7. Von p_H 6·00 bis 5·90 auf 2·4. Von p_H 5·90 bis 5·85 auf 2·2. In diesem Werte ist nun das zweite dem ersten analoge Minimum der Kurve erreicht. Von diesem Punkte an wird die Strömung wieder unregelmäßig. Die Geschwindigkeit wird mit steigender H-Ionenkonzentration immer geringer. Sie sinkt dann schließlich bei p_H 5·60 bis 5·50 auf 0, was in der beigegebenen Kurve mit Unendlich, also mit dem zweiten Maximum angedeutet ist.

In erster Linie fällt bei dieser Kurve die Zweigipfligkeit derselben auf. Zweigipflige Kurven sind in der H-Ionenliteratur eine sehr häufig besprochene Erscheinung. Wertvoll ist es aber, daß eine so wichtige Lebensreaktion des Protoplasten von den H-Ionen in Form einer zweigipfligen Kurve beeinflußt wird. Hopkins (1926) konnte auch den Nachweis erbringen, daß die Bewegung der *Amoeben* von den H-Ionen in Form einer zweigipfligen Kurve beeinflußt wird.

---

[1] Dieser Fachausdruck ist der Arbeit Fittings entnommen und bezeichnet sehr prägnant das Schnellerwerden der Plasmaströmung.

Weiterhin sei noch erwähnt, daß das durch vorliegende Untersuchungen erlangte Zahlenbild sich vollkommen mit den Ergebnissen über die Veränderungen der morphologischen Struktur des Plasmas deckt. In den H-Ionenkonzentrationen, in denen das Plasma die verschiedenen Stadien des primären Vakuolenstadiums aufweist, ist auch die Strömung eine konstante. In diesen Konzentrationen tritt Stimulation der Strömung ein. In den p_H-Bereichen, in denen sich der Übergang vom primären bis zum sekundären Vakuolenstadium vollzieht, ist die Strömung inkonstant, es tritt Verzögerung der Strömung ein. Erreicht das sekundäre Vakuolenstadium seinen Höhepunkt, so ist auch die Strömung fast sistiert.

Als Zusammenfassung der Ergebnisse ist folgendes zu erwähnen.

1. Es bewirken schon so geringe Konzentrationssteigerungen, wie von p_H 6·80 bis 6·70 eine Änderung der Plasmaströmungsgeschwindigkeit.

2. Bis p_H 6·40 beschleunigen die H-Ionen die Strömung. Hierauf tritt eine Verzögerung ein, die in p_H 6·15 ihren Höhepunkt erreicht. Die Strömung wird dann wieder beschleunigt und erst von p_H 5·85 an verzögert sie sich wieder. Sie erreicht schließlich bei p_H 5·50 bis 5·65 den Wert 0.

3. Der Verlauf des Strömungsdiagrammes ist also der einer zweigipfligen Kurve.

4. Diese Kurve stimmt genau mit den Ergebnissen der morphologischen Untersuchung überein.

5. Auch die Konstanz und Inkonstanz der Plasmaströmung steht in innigem Zusammenhang mit der morphologischen Struktur des Protoplasten.

III. Theoretisches.

Man wußte eigentlich über die Desorganisation des Protoplasten durch Säuren sehr wenig. Fast in allen größeren Handbüchern wird in dieser Frage auf die Arbeit von Klemm zurückgegriffen. Brenner konnte die Ergebnisse Klemms auch nur etwas erweitern. Diese Arbeiten behandeln die Desorganisationserscheinungen durch Säuren, geben aber keinen sicheren Aufschluß über die direkte Wirkung der H-Ionen auf das Plasma. Wie verhalten sich nun vorliegende Ergebnisse zu den Ergebnissen Klemm's und Brenner's? In Bezug auf die Plasmoptyse erwähnte ich schon im betreffenden Kapitel, daß meine Ergebnisse mit diesen Klemm's vollständig übereinstimmen. Klemm vertritt auch die Meinung, daß die Säuren rasch in die Zelle permeieren. Diese Tatsache kann auf Grund vorliegender Resultate vollständig bestätigt werden. Die von Klemm beschriebenen »körnigen Ausscheidungen« im Plasma entsprechen dem von mir beobachteten Wachsen der Mikronenanzahl und der Vergrößerung der Mikronen. Außerdem stellte dieser Autor eine Kontraktion des Protoplasten der Wurzelhaare fest, die sehr selten so ausgebildet war, daß sich der Protoplast von der Wand meniskenartig abhob. Eine derartige Kontraktion konnte ich wohl in sehr seltenen Fällen und dann nur in

wird die Strömung um ein Bedeutendes stimuliert. Es tritt Dinese[1] ein. Im Bereich p_H 6·70 bis 6·60 ist der Mittelwert schon auf 2 gesunken. Es zeigt sich also auch in diesen rein quantitativen Untersuchungen, daß schon so geringe Konzentrationen der H-Ionen eine wahrnehmbare physiologische Reaktion hervorzurufen imstande sind. Durch dieses Resultat wird auch das analoge Ergebnis der morphologischen Untersuchungen bestätigt.

Diese Beschleunigung der Strömung geht noch immer weiter. Von p_H 6·60 bis 6·50 erniedrigt sich der Wert bis 1·9. Von p_H 6·50 bis 6·40 sinkt er auf 1·7. In diesem Punkte ist auch das erste Minimum der Kurve erreicht. Dieser Teil der Kurve, welcher voll ausgezogen ist, zeichnet sich durch die Konstanz der Strömungsgeschwindigkeiten aus. In den folgenden p_H-Bereichen bis p_H 6·13 tritt die bereits von Klemm (1895) festgestellte Unregelmäßigkeit der Strömung ein, welche in der Kurve durch Strichlierung zum Ausdrucke gebracht wird. Die allgemeinen Mittelwerte dieses p_H-Bereiches sind natürlich nur ideelle Werte, die für die Definition der Strömungsintensität vollkommen genügen.

Von diesem Minimum, also von p_H 6·40 bis 6·30, steigt dieser Mittelwert rapid auf 2·6. Von p_H 6·30 bis 6·20 steigt er weiter auf 3·8. In diesen Konzentrationen werden die Differenzen zwischen den einzelnen Werten immer größer. Bei p_H 6·20 bis 6·18 steigt er auf 4·5. In p_H 6·15 ist schließlich der Wert Unendlich erreicht, d. h. die Geschwindigkeit ist gleich 0. Das erste Maximum der Kurve ist erreicht.

Gleich darauf beginnt die Kurve sehr steil, ja fast senkrecht zu fallen. Sie erreicht bei p_H 6·13 bis 6·10 wieder Werte, die um 3 liegen, welche aber infolge der beträchtlichen Aberrationen sehr schwer zu bestimmen sind. Von p_H 6·10 an zeichnet sich die Strömung wieder durch ihre Konstanz aus. Dieser bereits wieder reelle Wert fällt nun bei p_H 6·10 bis 6·00 auf 2·7. Von p_H 6·00 bis 5·90 auf 2·4. Von p_H 5·90 bis 5·85 auf 2·2. In diesem Werte ist nun das zweite dem ersten analoge Minimum der Kurve erreicht. Von diesem Punkte an wird die Strömung wieder unregelmäßig. Die Geschwindigkeit wird mit steigender H-Ionenkonzentration immer geringer. Sie sinkt dann schließlich bei p_H 5·60 bis 5·50 auf 0, was in der beigegebenen Kurve mit Unendlich, also mit dem zweiten Maximum angedeutet ist.

In erster Linie fällt bei dieser Kurve die Zweigipfligkeit derselben auf. Zweigipflige Kurven sind in der H-Ionenliteratur eine sehr häufig besprochene Erscheinung. Wertvoll ist es aber, daß eine so wichtige Lebensreaktion des Protoplasten von den H-Ionen in Form einer zweigipfligen Kurve beeinflußt wird. Hopkins (1926) konnte auch den Nachweis erbringen, daß die Bewegung der *Amoeben* von den H-Ionen in Form einer zweigipfligen Kurve beeinflußt wird.

---

[1] Dieser Fachausdruck ist der Arbeit Fittings entnommen und bezeichnet sehr prägnant das Schnellerwerden der Plasmaströmung.

Weiterhin sei noch erwähnt, daß das durch vorliegende Untersuchungen erlangte Zahlenbild sich vollkommen mit den Ergebnissen über die Veränderungen der morphologischen Struktur des Plasmas deckt. In den H-Ionenkonzentrationen, in denen das Plasma die verschiedenen Stadien des primären Vakuolenstadiums aufweist, ist auch die Strömung eine konstante. In diesen Konzentrationen tritt Stimulation der Strömung ein. In den p_H-Bereichen, in denen sich der Übergang vom primären bis zum sekundären Vakuolenstadium vollzieht, ist die Strömung inkonstant, es tritt Verzögerung der Strömung ein. Erreicht das sekundäre Vakuolenstadium seinen Höhepunkt, so ist auch die Strömung fast sistiert.

Als Zusammenfassung der Ergebnisse ist folgendes zu erwähnen.

1. Es bewirken schon so geringe Konzentrationssteigerungen, wie von p_H 6·80 bis 6·70 eine Änderung der Plasmaströmungsgeschwindigkeit.

2. Bis p_H 6·40 beschleunigen die H-Ionen die Strömung. Hierauf tritt eine Verzögerung ein, die in p_H 6·15 ihren Höhepunkt erreicht. Die Strömung wird dann wieder beschleunigt und erst von p_H 5·85 an verzögert sie sich wieder. Sie erreicht schließlich bei p_H 5·50 bis 5·65 den Wert 0.

3. Der Verlauf des Strömungsdiagrammes ist also der einer zweigipfligen Kurve.

4. Diese Kurve stimmt genau mit den Ergebnissen der morphologischen Untersuchung überein.

5. Auch die Konstanz und Inkonstanz der Plasmaströmung steht in innigem Zusammenhang mit der morphologischen Struktur des Protoplasten.

III. Theoretisches.

Man wußte eigentlich über die Desorganisation des Protoplasten durch Säuren sehr wenig. Fast in allen größeren Handbüchern wird in dieser Frage auf die Arbeit von Klemm zurückgegriffen. Brenner konnte die Ergebnisse Klemms auch nur etwas erweitern. Diese Arbeiten behandeln die Desorganisationserscheinungen durch Säuren, geben aber keinen sicheren Aufschluß über die direkte Wirkung der H-Ionen auf das Plasma. Wie verhalten sich nun vorliegende Ergebnisse zu den Ergebnissen Klemm's und Brenner's? In Bezug auf die Plasmoptyse erwähnte ich schon im betreffenden Kapitel, daß meine Ergebnisse mit diesen Klemm's vollständig übereinstimmen. Klemm vertritt auch die Meinung, daß die Säuren rasch in die Zelle permeieren. Diese Tatsache kann auf Grund vorliegender Resultate vollständig bestätigt werden. Die von Klemm beschriebenen »körnigen Ausscheidungen« im Plasma entsprechen dem von mir beobachteten Wachsen der Mikronenanzahl und der Vergrößerung der Mikronen. Außerdem stellte dieser Autor eine Kontraktion des Protoplasten der Wurzelhaare fest, die sehr selten so ausgebildet war, daß sich der Protoplast von der Wand meniskenartig abhob. Eine derartige Kontraktion konnte ich wohl in sehr seltenen Fällen und dann nur in

stärkeren H-Ionenkonzentrationen feststellen, und zwar als prämortale Erscheinung. Das Plasma ist zum großen Teil in solchen Zellen schon tot. In Bezug auf die Ergebnisse der Plasmaströmungsänderungen können meine Ergebnisse mit denen Klemm's kaum verglichen werden. Die von Klemm verwendeten Konzentrationen und Konzentrationsabstufungen waren zu groß, um feinere Reaktionen in dieser Hinsicht feststellen zu können. Das Unregelmäßigwerden der Plasmaströmung stellt Klemm als spezifische Säurewirkung hin. Ein Teil meiner Messungen können ein solches Unregelmäßigwerden bestätigen.

Brenner gelang es, eine weitere wichtige Säurewirkung festzustellen. Er beobachtete eine Volumszunahme des Plasmas auf Kosten der Vakuolen. Diese Tatsache stimmt vollkommen mit meinen Untersuchungsergebnissen überein. In seiner Arbeit führt er auch eine Beobachtung an, die sehr wichtig erscheint. Er beobachtete, daß bei dieser »Kontraktion der Vakuole«[1] die Farbe des anthocianhältigen Zellsaftes intensiver wird. Die »Kontraktion« entsteht also durch Wasseraufnahme von seiten des Protoplasten. Brenner führt dieselbe auf osmotische Erscheinungen zurück. Ich bin der Ansicht, daß es sich um eine Quellungserscheinung des Protoplasten handelt. Durch diesen Vorgang sind die groben strukturellen Veränderungen des Protoplasten bedingt. Außerdem beobachtete obgenannter Autor die Erscheinung, daß der ganze Protoplast nicht zugleich abstirbt, sondern der Zellkern bedeutend früher zugrunde geht.

Es geht zwar der Zellkern bedeutend früher in den Gelzustand über, wodurch er auch im Hellfelde granuliert sichtbar ist. Es ist aber diese Erscheinung, die von Herwerden beschriebene reversible Gelbildung. Meine Versuche haben gezeigt, daß dieselbe erst in relativ hohen H-Ionenkonzentrationen irreversibel wird. Aus diesem Grunde muß dieser Schluß Brenner's in dieser Weise modifiziert werden, denn Gelbildung und Tod brauchen nicht identisch zu sein. Brenner betont, daß als erste sichtbare Wirkung der Säuren das Aufhören der Plasmaströmung zu betrachten sei. Diese Beobachtung stimmt mit meinen Ergebnissen nicht überein. Der Grund dieser Differenz dürfte wohl in der Verschiedenheit der Methodik und der Versuchsbedingungen liegen. Brenner vertritt die Meinung, daß die Säuren langsam in die Zelle permeieren. Diese Aussage können meine Versuche durchwegs nicht bestätigen.

Die Ergebnisse Klemm's und Brenner's konnte ich bezüglich der strukturellen Veränderungen im Plasma im großen und ganzen bestätigen. Hinsichtlich der Einwirkung der Säuren auf die Plasmaströmung und die Veränderungen des Zellkernes, stimmen die Resultate dieser Forscher nicht mit meinen überein.

Nur durch die erst in neuerer Zeit ausgearbeitete Aciditätsabstufung durch Messungen der aktuellen Reaktion und durch

---

[1] Es dürften Beziehungen bestehen zu der von Küster (1926) Gicklhorn und Weber (1926) beschriebenen Vakuolenkontraktion.

Pufferung ließ sich vorliegende Analyse der Einwirkung der H-Ionen auf das Plasma ausarbeiten. In Bezug auf die von mir konstatierte Periodizität der Erscheinungen ist die Beobachtung Klemm's, daß die Plasmoptyse in zwei heterogenen Konzentrationen ($1^0/_{00}$, $5^0/_{00}$) besonders markant hervortritt, eine bemerkenswerte Feststellung.

Eine Arbeit, die mir erst nach Abschluß meiner Untersuchungen zugänglich wurde, stammt von zoologischer Seite. Hopkins (1926) untersuchte in zwei Experimentreihen die Abhängigkeit der Teilung, des Wachstums und insbesondere der Bewegung von *Amoeba proteus* von der H-Ionenkonzentration. Seine Resultate sind höchst interessant und sie stehen im innigen Zusammenhang mit meinen Versuchsresultaten. Im ersten Experiment untersuchte dieser Forscher die Abhängigkeit des Wachstums, der Teilung und der Bewegung dieser Amöbe von der H-Ionenkonzentration. Das Ergebnis war in jedem Falle eine zweigipflige Kurve. Im zweiten Versuch veränderte Hopkins die Lebensbedingungen der Amöben und untersuchte die Verschiebung der Optima der Bewegungskurve. *Amoeba*, welche in einem alkalischen Substrat sich entwickelt hatte, zeigte das Optimum der Bewegung ungefähr in p_H 8. In saurem Substrat aufgewachsene Amöben zeigen dieses um p_H 6·50. Dieses Ergebnis bestätigt auch die von mir weiter unten diskutierte Möglichkeit einer Säureanpassung des Protoplasten.

Sakamura und Tsung-Le-Loo (1925) untersuchten mit Hilfe der Zentrifugierungsmethode die Änderung der Plasmaviskosität in *Spirogyra*-Zellen, hervorgerufen durch die Änderung der Wasserstoffionenkonzentration des Außenmediums. Das Ergebnis zeigt klar mehrere, oft drei Verflüssigungs- und Verfestigungspunkte. Die Lage dieser Punkte ist für Frühlings- und Winterpflanzen gegenüber den Sommerpflanzen eine verschiedene. Dieses Ergebnis weist wieder klar darauf hin, daß sich die physikalisch chemische Struktur des Protoplasten den jeweiligen äußeren Einflüssen anzupassen versucht.

Es ist eine in der Literatur häufig erwähnte Erscheinung, daß die H-Ionen das Wachstum der Pflanze in Form einer zweigipfligen Kurve beeinflussen. (Siehe Literaturangabe bei Arrhenius [1926]). Ich möchte von den zahlreichen Arbeiten nur eine herausgreifen. Hixon (1922) untersuchte die Abhängigkeit der Keimungsintensität der Getreidearten von der Acidität des Substrats. Er fand zwei Optima und dazwischen um p_H 6 gelegen ein Minimum. Dies ist, verglichen mit meinen Ergebnissen, eine sehr bemerkenswerte Tatsache.

Sowohl das Plasma selbst, als auch das physiologische Verhalten der Pflanze wird von den H-Ionen periodisch beeinflußt. Es liegt nun die Frage nahe, ob diese beiden Kurvenbilder in irgendwelchem genetischen Zusammenhange stehen. Aus einem noch weiter unten zu erwähnenden Beobachtungsergebnis ergibt sich das tatsächliche Bestehen dieses genetischen Zusammenhanges. Es erscheint also klar, daß die Periodizität der physiologischen Reaktionen des Organismus entweder durch eine eigenartige physikalisch-chemische Struktur des

Plasmas, oder durch die Zwitternatur (H˙ und OH′) des Agens begründet werden kann. Arrhenius (1926) diskutiert die Möglichkeit des letzteren Grundes. Er vertritt die Meinung, daß die Zweigipfligkeit der Kurvensysteme durch die Addition der H- und OH-Ionenwirkung zustande käme.

Die erstere Erklärungshypothese läßt sich wieder in zwei Gruppen teilen. Die eine ist die Theorie des isoelektrischen Verhaltens des Protoplasmas. Diese von zahlreichen Forschern vertretene Ansicht geht von der Voraussetzung aus, daß das Protoplasma sich analog einem hydrophilen Sol verhält. Solche Sole zeigen bei einer bestimmten H-Ionenkonzentration isoelektrisches Verhalten. Oft gibt es, wie es in neuerer Zeit für die Gelatine von Elmer O. Kraemer (1925) nachgewiesen wurde, zwei isoelektrische Punkte. Man kann sich ja vorstellen, daß diese H-Ionenkonzentrationen, in denen die stärkste physiologische Reaktion eintritt, dem isoelektrischen Punkte des Protoplasten entsprechen.

Führen wir uns nun die H-Ioneneinwirkung nach dem Stand unserer heutigen Begriffe vor Augen. Das Plasma ist nach allgemeiner Anschauung ein negativ geladenes komplexes Hydrosol, gemischt mit einem Suspensionskolloid. Die + H-Ionen werden das Plasma also zunächst entladen. Als Folge davon müssen (vgl. Pearsall und Ewing, 1925) Fällung, Volumsänderungen, Viskositätsänderungen vor sich gehen. Diese Erscheinungen zeigen im isoelektrischen Punkt ihr Maximum. Vergleicht man nun mit dieser Überlegung, die von mir gefundenen Veränderungen des Plasmas, so kann man tatsächlich eine Übereinstimmung beobachten. Solche Veränderungen konnte ich sowohl im Cytoplasma, als auch im Karyoplasma feststellen. Aus dieser Überlegung geht auch die Folgerung hervor, daß die elektrische Ladung des Zellkernes eine viel geringere ist als die des Cytoplasmas, da ja der Zellkern bedeutend früher in den Gelzustand übergeht. Das Verhalten des Kernes und des Cytoplasmas lehrt uns aber noch etwas. Es ist außer Zweifel, daß, wenn diese Theorie richtig ist, in p_H 6·35 der Kern und in p_H 6·15 das Plasma sich im isoelektrischen Zustand befinden. Wie aber die Reversibilitätsversuche lehren, ist dieser Zustand keineswegs ein letaler. Wie soll man sich aber das Verhalten des Plasmas nach p_H 6·15 erklären? Die eine Erklärung ist eben die Annahme eines zweiten isoelektrischen Punktes, der dann die letale Dosis darstellt. Die andere Erklärung — jetzt kommt die obenerwähnte zweite Gruppe — wäre diese, daß für die Veränderungen des Plasmas von p_H 6·70 bis 6·15 die H-Ionen direkt verantwortlich zu machen sind, während die Veränderungen des Plasmas von p_H 6·15 eine sekundäre H-Ionenwirkung sein könnte, dann wäre also der zweite Teil der Kurve ein ganz anderer Faktor und die beiden Perioden sind nicht als identische Kurven aufzufassen.

Ich nehme hier prinzipiell zu keiner Auffassung Stellung, denn es können erst weitere experimentell erhaltene Tatsachen den richtigen Weg zeigen.

Sehr wichtig wäre es auch festzustellen, ob diese Veränderungen des Plasmas für die H-Ionen spezifisch sind oder nicht. Veränderungen der kolloidalen grobdispersen Struktur des Plasmas können durch viele Einflüsse hervorgerufen werden. Ob sie in dieser Art und Weise vor sich gehen, ob sie auch periodisch sind oder nicht, das sind alles Fragen, die zur Erklärung dieser Probleme wertvolle Beiträge leisten könnten. Die Beschleunigung der Plasmaströmung in niederen Konzentrationen ist für die H-Ionenwirkung nicht spezifisch. Narkotica z. B. verursachen in Minimakonzentrationen auch Dinese. Vorversuche, welche ich mit verdünnten Chloroformlösungen anstellte, zeigen aber, daß auch durch Chloroformwirkung in bestimmten Konzentrationen das Platzen hervorgerufen werden kann. Schon Pantanelli (1905) konstatierte das Platzen von Zellen durch Narkotica. Regenerationsbildungen, wie sie in Kapitel I beschrieben sind, konnte ich auch in analogen Versuchsreihen durch Chloroformwirkung erzielen. Stark verdünnte Chloroformlösungen bewirken auch eine Mikronenvermehrung, Volumsvergrößerung des Protoplasten. Sekundäre Vakuolenbildungen treten in gleicher Weise wie bei der H-Ioneneinwirkung auf. Eine eigene Arbeit wird in Hinkunft der Untersuchung dieser Erscheinung gewidmet werden. Das sind sonach alles offene Fragen. Es scheinen die von mir beobachteten Veränderungen Kolloidphänomene allgemeiner Natur zu sein.

Die Reaktionen des Protoplasten gegenüber den H-Ionen sind bedingt durch die jeweilige Säureempfindlichkeit desselben, d. h. der Konzentrationsgrad der H-Ionen, der zum Hervorrufen einer bestimmten Veränderung notwendig ist, ist von der jeweiligen Säureempfindlichkeit des betreffenden Organismus abhängig. Die Reaktion des Plasmas auf die H-Ioneneinwirkung besteht eben in einer Veränderung des physikalisch-chemischen Zustandes des Protoplasmas. Zwischen der Säureempfindlichkeit und dem physikalisch-chemischen Zustand desselben herrscht somit eine innige Beziehung. Durch Fixierung eines markanten Punktes (z. B. sekundäre Vakuolenstadium usw.) ist es also möglich, in der zum Erreichen dieses Punktes notwendigen $[H^{\cdot}]$ eine zum Vergleich brauchbare Maßzahl des physikalisch-chemischen Zustandes der lebenden Materie zu erlangen. Damit ist eine Methode gegeben, mit deren Hilfe es möglich erscheint, die Einwirkung der verschiedensten physikalisch-chemischen Faktoren auf die Säureempfindlichkeit, beziehungsweise auch auf den physikalisch-chemischen Zustand des Plasmas messend zu verfolgen.

Wenn diese Methode geeignet ist, die Säureempfindlichkeit des Protoplasten nachzuweisen, so müßte z. B. bei *Sinapis*-Wurzelhaaren gegenüber *Hordeum* das ganze Kurvensystem gegen den Neutralpunkt verschoben sein, da ja *Sinapis* bedeutend säureempfindlicher ist als *Hordeum*. In der Tat erwies sich durch den Versuch diese Tatsache. In p_H 6·80 tritt bereits in *Sinapis*-Wurzelhaaren starke Ausflockung und Plasmoptyse ein. Diese Feststellung zeigt uns wieder, daß man berechtigt ist, die Einwirkung der H-Ionen

auf das Wachstum und die Reaktion des Plasmas gegenüber den H-Ionen in innige Beziehung zu bringen.

Um die Eignung der Methode nachzuweisen, führte ich folgenden Versuch durch. Ich änderte die Bedingungen, unter welchen die Wurzeln keimten. Sie keimten in diesen Vorversuchen in einem sauren Medium. Das Ergebnis der Untersuchungen war folgendes: Es zeigte sich, daß das Plasma gegenüber den Versuchen mit in neutralem Medium gekeimten Pflanzenmaterial viel weniger säureempfindlich war. Das ganze System der Veränderungen der morphologischen Struktur war gegen die saure Seite hin verschoben. So fand ich z. B. bei diesen Haaren das vollentwickelte sekundäre Vakuolenstadium erst bei p_H 5·90. Auch die Ausflockung des Zellkernes war gegen die saure Seite hin verschoben.

Aus diesen Voruntersuchungen folgt eindeutig die Tatsache, daß die Säureempfindlichkeit eines Protoplasten keinen konstanten Wert darstellt, sondern von den Außenfaktoren abhängig ist, unter denen das Plasma sich entwickelt hat.

Von diesem Standpunkt aus müssen meine bisherigen Ergebnisse betrachtet werden. Durch diese Erkenntnis ist es auch möglich, die beträchtlichen Differenzen der bisherigen Forschung auf diesem Gebiete zu erklären. Addoms (1923) kultivierte ihre *Triticum*-Pflanzen in hohen H-Ionenkonzentrationen. Die Folge davon war natürlich eine extreme Herabsetzung der Säureempfindlichkeit ihrer Pflanzen. Auf Grund dieser Untersuchung behauptet aber Arrhenius (1926), daß die Wirkung der H-Ionen eine indirekte sei. Ich bin ganz überzeugt, daß eine solche Wirkung möglich ist, sie ist aber nicht die einzig mögliche Wirkung der H-Ionen. Vorliegende Untersuchungen haben eindeutig gezeigt, daß schon geringe Wasserstoffionenkonzentrationen eine physiologische Reaktion im Protoplasma hervorrufen können. Eine indirekte Wirkung kann hier nicht vorliegen, da das Indirekte fehlt, oder in so geringer Konzentration vorhanden ist, daß es physiologisch nicht wirksam sein kann. Selbstverständlich wird durch die Veränderungen des kolloiden Zustandes des Plasmas auch die Permeabilität desselben für andere Ionen beinflußt werden, so daß es auch zu einer indirekten Wirkung der H-Ionen kommen kann, wenn andere Ionen in genügender Konzentration eben vorhanden sind.

Es zeigte sich also, daß es eine Säureanpassung geben kann und daß es mit Hilfe der ausgearbeiteten Methode möglich ist, derartige Veränderungen der Säureempfindlichkeit des Plasmas messend zu verfolgen. Der II. Teil meiner Untersuchungen wird sich mit der experimentellen Ausarbeitung dieses Problemes befassen.

III. Zusammenfassung der Ergebnisse.

In vorliegender Arbeit wurde die direkte Beeinflussung des Plasmas der Wurzelhaare von *Hordeum vulgare* L. durch die

Wasserstoffionen studiert. Die Wirkung derselben auf das Plasma wurde im Dunkelfelde untersucht.

Zunächst wurden die strukturellen Veränderungen, hervorgerufen durch die H-Ionenwirkung, festgelegt.

Stellt man die strukturellen Veränderungen im Plasma in ihrer Abhängigkeit von der wechselnden H-Ionenkonzentration graphisch dar, so ergibt sich nicht das Bild einer geradlinigen, sondern das einer zweigipfligen Kurve. Die beobachteten Veränderungen zeigen sich: *a)* in einer Volumszunahme des Plasmas auf Kosten der Vakuolen, *b)* in einer Vermehrung der Mikronenanzahl, *c)* in einer Vergrößerung der Mikronen selbst, *d)* in einer Zustandsänderung des Kernes, *e)* in einer Änderung des Innendruckes, welche an dem Platzen der Haare zu erkennen ist. Der Kern geht bedeutend früher in den Gelzustand über als das Plasma. Die Veränderungen des Plasmas sind fast bis zur letalen Dosis in Wasser von normalem p_H wieder reversibel. Der Gelzustand des Kernes wird jedoch in Konzentrationen irreversibel, in denen die Veränderungen im Cytoplasma noch reversibel sind. Von der Konzentration an, in welcher der Kern in den Gelzustand übergeht, zeigen sich Regenerationsbildungen an der Spitzenpartie der Haare, welche in eigenartigen aus Zellulose bestehenden Wandverdickungen bestehen.

Weiterhin wurde auch die Abhängigkeit der Plasmaströmungsgeschwindigkeit von der Wasserstoffionenkonzentration studiert. Die Strömungsgeschwindigkeit wurde an den Mikronen der grobdispersen Phasen des Plasmas gemessen. Durch die Einführung dieser exakten Meßmethode konnten sehr genaue Ergebnisse erzielt werden. Schon eine so geringe Konzentrationssteigerung wie von p_H 6·80 bis 6·70 bewirkt eine Stimulation der Plasmaströmung. Bis p_H 6·40 beschleunigen die H-Ionen die Strömung. Hierauf tritt eine Verzögerung ein, die in p_H 6·15 ihren Höhepunkt erreicht. Die Strömung wird dann wieder beschleunigt und erst von p_H 5·85 an verzögert sie sich neuerdings. Sie erreicht schließlich bei p_H 5·50 bis 5·65 den Wert Null.

Das Strömungsdiagramm ist also eine zweigipflige Kurve. Diese Ergebnisse stimmen vollständig mit den Resultaten der morphologischen Untersuchungen überein.

Es wurde auch die Frage aufgeworfen, ob diese Veränderungen im Plasma für die H-Ionenwirkung spezifisch sind oder nicht. Versuche mit verdünnten Chloroformlösungen, die ganz analog den H-Ionenversuchen durchgeführt wurden, haben gezeigt, daß auch durch Chloroformwirkung Mikronenvermehrung, Volumsvergrößerung des Protoplasten, Vakuolenbildungen, Plasmoptyse und Regenerationserscheinungen zustande kommen.

Schließlich wird noch die Anwendbarkeit dieser Ergebnisse als Messungsmethode zur Bestimmung der jeweiligen Säureempfindlichkeit eines Protoplasten besprochen. In Vorversuchen wurde mit

Hilfe dieser Methode auch der Nachweis erbracht, daß die Säureempfindlichkeit eines Protoplasten keinen konstanten Wert darstellt, sondern von den äußeren physikalisch-chemischen Bedingungen abhängig ist, unter denen sich das Plasma entwickelt hat.

Literaturverzeichnis.

Addoms, R. M. (1923), The effect of the hydrogen ion on the protoplasm of the root hairs of wheat. American journ. of Botany, *10*, 211.

Arrhenius, O. (1926), Bodenreaktion und Pflanzenleben mit spezieller Berücksichtigung des Kalkbedarfes für die Pflanzenproduktion. Leipzig.

Beikirch, H. (1925), Die Abhängigkeit der Protoplasmaströmung von Licht und Temperatur und ihre Bedingtheit durch andere Faktoren. Bot. Archiv, 12. Bd., p. 389—445.

Bělehrádek, Jan. (1924, 25), La viscosité du protoplasma vivant et ses rapports avec l'activité et le vieillissement cellulaire. Publ. Fac. Méd. Brno., Républ. Tschechosl., Tome III, 1.

Brenner, W. (1918), Studien über die Empfindlichkeit und Permeabilität pflanzlicher Protoplasten für Säuren und Basen. Oefversigt af Finska Vedensk.-Soc. Förhandl., Bd. 40, Afd. *A*, Nr. 4.

Demeter, K. (1923), Über »Plasmoptysen«-Mycorrhiza. Flora, 116. Bd., p. 405.

Elmer, O. Kraemer (1925), The second »isoelectric point« of Gelatine. Journ. of Physical Chemistry, Vol. XXIX, p. 410—413.

Fitting, H. (1925), Untersuchungen über die Auslösung von Protoplasmaströmung. Jahrb. f. wiss. Bot., *64*, p. 281.

Herwerden, von M. N. (1925), Reversible Gelbildung in Epithelzellen der Froschlarve und ihre Anwendung zur Prüfung auf Permeabilitätsunterschiede in der lebenden Zelle. Archiv f. exp. Zellforsch., Bd. 1, H. 2.

Hixon, R. M. (1923), The effect of the reaction of a nutritive solution on germination and the first stages of plant growth. Meddel. K. Vetenskapsphad. Nobel-Inst., *4*, Nr. 9, p. 28.

Hopkins, D. L. (1926), The effect of hydrogen-ion concentration on locomotion and other life-prozesses in *Amoeba proteus*. Proceedings of the national Academy of Sciences of the United States of America. Vol. 12, p. 311—315.

Jurišić, P. J. (1925), Die Geschwindigkeitsänderung der Protoplasmaströmung den Pflanzenzellen. Acta. Bot. Inst., Zagreb, *1*, p. 25—31.

Klemm, P. (1895), Desorganisationserscheinungen der Zelle. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 28, p. 627.

Küster, E. (1926), Beiträge zur Kenntnis der Plasmolyse. Protoplasma, Bd. 1, H. I.

Lakon, G. (1914), Beiträge zur Kenntnis der Protoplasmaströmung. Ber. d. Deutschen bot. Ges., 32. Bd., p. 421.

Lloyd, E. F. (1917), The effect of acids and alkalis on the growth of the protoplasm in pollen tubes. Memoirs of the Torry Botanical Club, Vol. 17, p. 84.

Lloyd, E. F. and Úhlela, V. (1926), The rôle of the wall in the living cell as studied by the autographic Method. Transact. of the Royal Society of Canada. Vol. XX, Sect. V, p. 45.

Lopriore, G. (1895), Über die Einwirkung der Kohlensäure auf das Protoplasma der lebenden Pflanzenzelle. Jahrb. f. wiss. Bot., Bd. 28, p. 35.

Michaelis, L. (1915), Wasserstoffionenkonzentration. Springer, Leipzig.

Pantanelli, E. (1905), Contribuzioni alla meccanica dell' accrescimento. II. L'explosione delle cellule vegetali. Annali di Botanica, Vol. II, Fasc. 2°, p. 297—357.

Pearsall W. H. and Ewing I. (1925), Some proteins properties of plant protoplasm. Brit.-Journ. Biol. 2, 347.

Rumjantzew, A. (1926), Der Einfluß der Reaktion des Mediums auf zytoplasmatische Strukturen. 1. Arch. f. exp. Zellforsch., Bd. III, H. 2.

Tetsu Sakamura und Tsung-Le-Loo (1925), Über Beeinflussung des Pflanzenplasmas durch H'-Ionen in versch. Konzentrationen. The Botanical Magazine, Tokyo, Vol. XXXIX, Nr. 460, p. 61—76.

Úhlela und Moravek (1923), Über die Wirkung von Säuren und Salzen auf *Basidiobolus ranarum*. Ber. d. Deutschen bot. Ges., *40*, p. 8 (vorl. Mitteilung).

Úhlela, V. (1923), Über den Einfluß der Wasserstoffionen auf ei iedere Pflanzen. Studia Mendeliana, Brno.

Weber, Friedl und Gicklhorn, J. (1926), Über Vakuolenkontraktion und Plasmalyseform. Protoplasma, Bd. I, Heft 3.

Tafelerklärung.

Alle Aufnahmen wurden mit Hilfe des Zeiß'schen Mikrophotographischen Okulars (»Phoku«) und mit Objektiv »*C*« hergestellt. Sämtliche Aufnahmen sind zwei- bis zweieinhalbfach vergrößert.

Fig. 1. Aufgenommen in p_H 6·70 ohne Gelbfilter. Expz.: 1 Min. 45 Sek. Einwirkungsdauer der H-Ionen $2\frac{1}{2}$ Min. Primäres Vakuolenstadium. Typus des normalen Haares, Plasma sehr lichtschwach.

Fig. 2. Aufgenommen in p_H 6·60 bis 6·70 mit Gelbfilter. Expz.: 1 Min. 20 Sek. Dauer der H-Ionenwirkung 6 Min. Primäres Vakuolenstadium. Das Plasma ist bereits lichtstärker.

Fig. 3. Aufgenommen in p_H 6·60 bis 6·65 mit Gelbfilter. Expz.: 1 Min. 15 Sek. Dauer der H˙-Wirkung 4 Min. Ausflockung des Zellkernes.

Fig. 4. Aufgenommen in p_H 6·70 bis 6·60 mit Gelbfilter. Expz.: 75 Sek. Dauer der H˙-Wirkung 10 Min. Die apikale Vakuole hat sich bis zu deren Verschwinden verkleinert. Das Plasma nimmt die Spitzenpartie des Haares vollständig ein. Diese Aufnahme wurde in einer Konzentration hergestellt, in welcher dieses Stadium sehr selten zu beobachten ist. Typisch ist dieses Bild für den p_H-Bereich 6·40 bis 6·30.

Fig. 5. Aufgenommen in p_H 6·45 mit Gelbfilter. Expz.: 1 Min. 20 Sek. Dauer der H˙-Wirkung 4 Min. Die apikale Vakuole ist vollständig verschwunden. Die Volumszunahme des Protoplasten ist deutlich sichtbar. Typisch ist dieses Stadium für den p_H-Bereich 6·30 bis 6·20.

Fig. 6. Aufgenommen in p_H 6·36 mit Gelbfilter. Expz.: 1 Min. 20 Sek. Dauer der H˙-Wirkung 4 Min. Die apikale Vakuole ist vollständig verschwunden. Stark leuchtend ist der in den Gelzustand übergegangene Kern sichtbar.

Fig. 7. Aufgenommen in p_H 6·36 mit Gelbfilter. Expz.: 1 Min. 20 Sek. Dauer der H˙-Wirkung 5 Min. Kern typisch ausgeflockt.

Fig. 8. Aufgenommen in p_H 6·10 bis 6·15 mit Gelbfilter. Expz. 1 Min. 40 Sek. Dauer der H˙-Wirkung 6 Min. Plasmoptyse.

Fig. 9. Aufgenommen in p_H 6·20 mit Gelbfilter. Expz.: 1 Min. 15 Sek. Dauer der H˙-Wirkung 10 Min. Sekundäres Vakuolenstadium.

Fig. 10. Aufgenommen in p_H 6·05 mit Gelbfilter. Expz.: 1 Min. 15 Sek. Dauer der H˙-Wirkung 4 Min. Die apikale Vakuole ist wieder deutlich sichtbar. An der Spitze zeigt das Haar die in dieser Konzentration besonders häufige Anschwellung.

Fig. 11. Aufgenommen in p_H 5·90 mit Gelbfilter. Expz.: $2\frac{1}{4}$ Min. Dauer der H˙-Wirkung $4\frac{1}{2}$ Min. Primäres Vakuolenstadium. Das Plasma erscheint verschwommen, da die Strömung sehr rege ist.

Fig. 12. Aufgenommen in p_H 5·80 mit Gelbfilter. Expz.: 1 Min. 25 Sek. Dauer der H˙-Wirkung 4 Min. Die apikale Vakuole ist wieder verschwunden, Mikronenvergrößerung deutlich sichtbar.

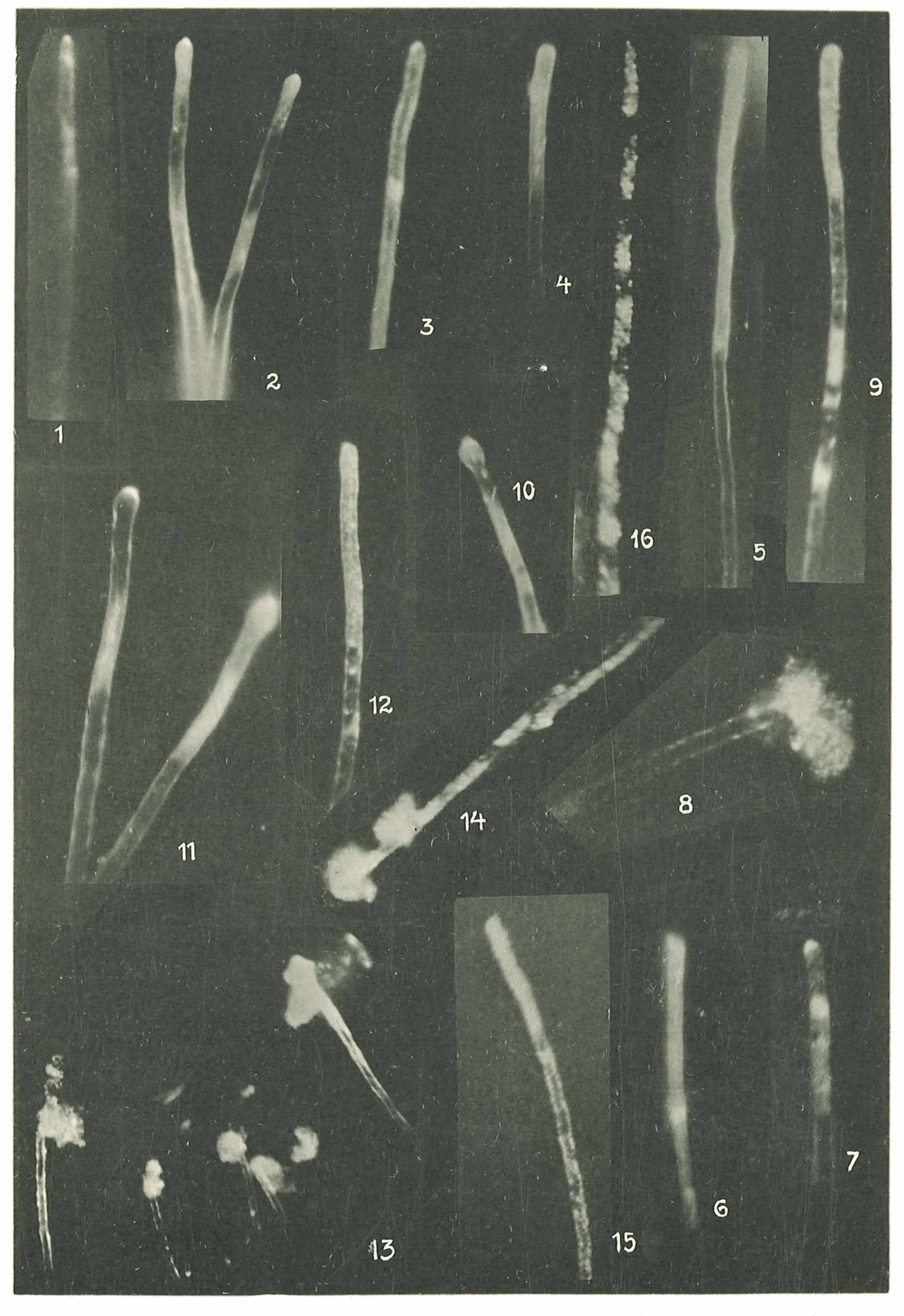
Fig. 13. Aufgenommen in p_H 5·60 mit Gelbfilter. Expz.: 1 Min. 20 Sek. Dauer der H˙-Wirkung 5 Min. Eine Gruppe geplatzter Haare.

Fig. 14. Aufgenommen in p_H 5·40 bis 5·50 mit Gelbfilter. Dauer der H˙-Wirkung 8 Min. Plasmoptyse.

Fig. 15. Aufgenommen in p_H 5·40 bis 5·50. Dauer der H˙-Wirkung 5 Min. Erstarrtes Plasma. Vergrößerung der Mikronen deutlich sichtbar.

Fig. 16. Aufnahme eines in p_H 5·90 bereits ausgeflockten Haares. Dieses Bild ist in seltenen Fällen in dieser Konzentration zu beobachten. Infolge der Günstigkeit des Objektes wurde es photographiert. Typisch ist dieses Bild für den p_H-Bereich 6·40 bis 6·58.

Siegfried Strugger: Einfluss d. Wasserstoff-Ionen a. d. Protoplasma.



Autor fec. Lichtdruck v. Max Jaffè, Wien.